

Universita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biologických a lékařských věd

KARDIÁLNÍ MARKERY

Bakalářská práce

Odborný školitel: Mgr. Věra Kašpráková

Praha, 2011

Zuzana Pavlová

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci citovány. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

datum 15.8.2011

Za vedení při zpracování mé práce bych tímto ráda poděkovala zejména Mgr. Věře Kašprákové a MUDr. Jiřímu Hochmannovi, CSc. Dále bych chtěla poděkovat rodičům a pracovnímu kolektivu Diagnostické laboratoře v Teplicích a kolektivu laboratoře OKB Fakultní Thomayerovi nemocnice, kteří mi mnohými cennými radami napomáhli a podporovali v celém mém dosavadním studiu. Nakonec bych chtěla poděkovat všem, kteří větší či menší měrou přispěli k dokončení této práce.

Motto:

Přes ne zcela jasné vymezení je zřejmé, že se kardiálními markery myslí především biochemické ukazatele ischemie, nekrózy a hemodynamických změn postihujících srdce.

Schneiderka, 2006

Obsah

| | |
|---|-----------|
| 1. Úvod a zadání | 5 |
| 2. Klinické indikace pro stanovení kardiálních markerů | 6 |
| 2.1. Ischemická choroba srdeční | 6 |
| 2.2. Angina Pectoris | 7 |
| 2.3. Infarkt myokardu | 8 |
| 2.4. Chronické selhání ledvin | 10 |
| 2.5. Kardiotoxicita při chemoterapii | 10 |
| 3. Kardiální markery | 11 |
| 3.1. Markery používané v historii | 12 |
| 3.1.1. Aspartátaminotransferáza..... | 12 |
| 3.1.2. Laktátdehydrogenáza..... | 13 |
| 3.1.3. Kreatinkináza..... | 13 |
| 3.1.4. Izoenzym CK – MB | 14 |
| 3.2. Markery používané v současnosti | 15 |
| 3.2.1. Myoglobin..... | 15 |
| 3.2.2. CK – MB mass..... | 16 |
| 3.2.3. Troponiny..... | 17 |
| 3.2.4. Natriuretické peptidy | 20 |
| 3.3. Nové potenciální markery | 25 |
| 3.3.1. Ischemií modifikovaný albumin..... | 25 |
| 3.3.2. Glykogenfosforiláza BB..... | 26 |
| 3.3.3. Cholin | 27 |
| 3.3.4. Vazebný protein pro mastné kyseliny | 27 |
| 4. Závěr | 29 |
| Souhrn..... | 30 |
| Summary | 31 |
| Literatura a prameny..... | 32 |
| Seznam použitých zkratk..... | 35 |
| Seznam obrázků a tabulek..... | 36 |

1. Úvod a zadání

Ischemická choroba srdeční s následným infarktem myokardu patří mezi nejzávažnější a nejčastější civilizační choroby. Proto by jejich včasné rozpoznání, či lépe jejich predikce, pokud to současný stav laboratorní diagnostiky umožňuje, měla být a jistě je v popředí zájmu a to jak odborné, tak i laické společnosti.

Mnohé firmy zabývající se výrobou diagnostik usilují ve svých výzkumných týmech o nalezení ideálního markeru. Ideální marker, ať už specifický pro srdce či jiný orgán nebo onemocnění, by měl mít určité vlastnosti. Těmito vlastnostmi jsou orgánová specifita, korelace mezi stupněm poškození či stádiem onemocnění se změnou koncentrace, korelace s terapií a změnou stavu postiženého jedince a v neposlední řadě je to také výskyt daného markeru v analyzovatelných tekutinách ve vysokých koncentracích. Bohužel takový marker zatím nebyl nalezen, nicméně je třeba neztrácet naději, vždyť výzkum jde neustále kupředu.

Cílem bakalářské práce je získat přehled odborné literatury na dané téma. A Dále si tato práce klade za cíl hlubší obeznámení s danou problematikou a jejím shrnutím.

Bakalářská práce se skládá ze dvou částí. V první části se věnuji onemocněním, u kterých je žádoucí sledovat hladiny kardiálních markerů, a v druhé části se věnuji popisu jednotlivých kardiálních markerů. Druhá část mé práce je ještě chronologicky rozdělena. Nejprve jsou popsány markery, které se užívali v minulosti, ale dnes se od jejich stanovování upouští nebo se již jako markery poškození srdce neužívají vůbec. Dále popisují markery, které se nejčastěji užívají v současnosti, a na konci krátce zmiňuji nové potenciální markery, které se ještě povětšinou nestanovují v praxi.

2. Klinické indikace pro stanovení kardiálních markerů

Klinickými indikacemi pro stanovení srdečních markerů je sledování ischemické choroby srdeční s následným akutním koronárním syndromem. Jako akutní koronární syndrom označujeme zejména akutní infarkt myokardu, anginu pectoris, náhlé zhoršení chronického srdečního selhání a mnoho dalších.

Další indikací by mělo být sledování pacientů s chronickým selháním ledvin, pacientů podstupujících chemoterapii (Engliš 2011).

2.1. Ischemická choroba srdeční

Ischemická choroba srdeční je způsobena arteriosklerózou, jež má nejčastěji příčinu v aterosklerotickém zúžení koronárních tepen.

Při aterosklerotických změnách dochází k chronickému poškození endotelu a následné aktivaci adhezivních molekul, které přitahují granulocyty s následnou možností trombotizace. Do stěny cév se ukládají lipoproteiny o nízké hustotě LDL obsahující estery cholesterolu. Na toto ložisko dále nasedají makrofágy a granulocyty, které postupně pronikají do intimy cévní stěny. K takto vytvořenému ložisku se postupně začínají shlukovat trombocyty. Působky trombocytů, makrofágů a endotelových buněk vedou k přesunu buněk hladké svaloviny z medie do intimy. Tím dochází k zúžení průsvitu a ztlustění stěny dané cévy a vzniká aterosklerotický plát.

Postupem času dochází ke kalcifikaci aterosklerotického plátu, které vede k dalšímu zúžení koronárních tepen.

V takto zúžené cévní stěně se snižuje průtok krve a tím i zásobení tkáně kyslíkem a dochází k ischemii.

2.2. Angina Pectoris

Angina pectoris (dále jen „AP“) je termín pro svíravou bolest na hrudi, bolest vystřelující do zad, ramen a paží případně i do krku a čelisti a nepříjemné pocity v důsledku ischemické choroby srdeční. K projevům AP dochází, pokud myokard vyžaduje více kyslíku, než jsou zúžené tepny schopny dodat. K zúžení dochází důsledkem aterosklerózy, arteriálních spasmů nebo částečným ucpáním přírodní koronární tepny. U AP jde o přechodnou, reversibilní ischemii.

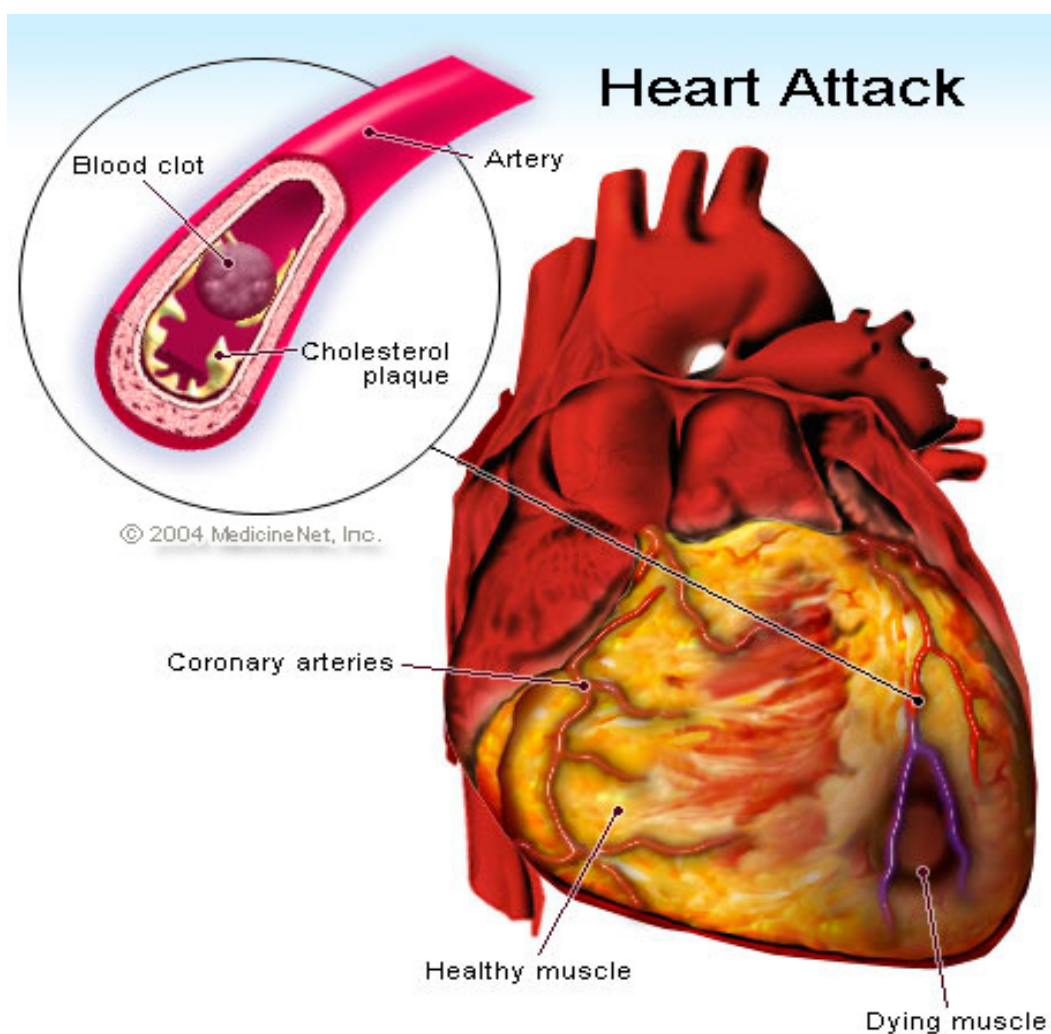
AP se vyskytuje ve dvou formách a to jako stabilní angina pectoris a nestabilní angina pectoris.

U stabilní anginy pectoris jsou ataky bolesti předvídatelné, např. po fyzické či psychické zátěži. K úlevě od bolesti dochází při zklidnění či po podání nitroglycerinu.

Při nestabilní angině pectoris nelze ataky bolesti předvídat a často se vyskytují, i pokud je nemocný v klidu. Bolest přetrvává delší dobu a intervaly jsou kratší. Nestabilní AP často přerůstá v akutní infarkt myokardu.

2.3. Infarkt myokardu

Infarktem myokardu (dále jen „IM“) je označováno ischemické ložisko, které vzniká při náhlém, úplném a trvalém uzavěru tepny obturujícím trombem, jež vzniká na povrchové erozi, fisuře nebo ruptuře zánětlivě změněného aterosklerotického plátu (Engliš; Šochman, 2009). Pokud nedojde k obnovení zásobení tkání kyslíkem, nastává v postižené oblasti k postupné nekróze.



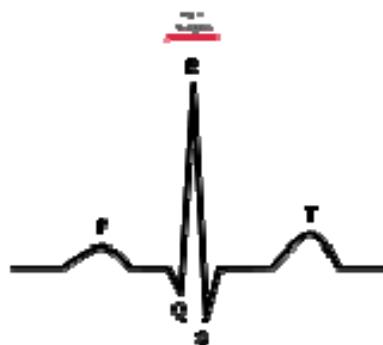
Obr. 1 ložisko infarktu myokardu
(dostupné z: http://www.medicinenet.com/heart_atak/article.htm#)

Infarkt myokardu rozdělujeme podle rozsahu a dále podle umístění nekrotického ložiska a dle změn na EKG.

Jedná – li se o nekrózu postihující všechny vrstvy srdečního svalu (epikard, myokard a částečně i endokard), pak se tento označuje jako transmurální. Netransmurální infarkt může být subendokardiální, kdy je postižena subendokardiální oblast, anebo infarkt intramurální, kdy dochází k nekróze ve vnitřní části stěny srdečního svalu.

Podle umístění tj. dle zasažené koronární tepny, dělíme infarkty na přední, boční, zadní či spodní části srdeční.

A konečně dle změn na elektrokardiogramu (dále jen „EKG“) dělíme infarkty na tzv. STEMI a NSTEMI. Infarkty označované jako STEMI mají na křivce EKG charakteristické změny ST – elevace (Pardeeho vlna).



Obr. 2 Normální obraz EKG
(dostupné z: http://cs.wikiversity.org/wiki/EKG_vy%C5%A1et%C5%99en%C3%AD)



Obr. 3 Elevace ST při STEMI
(dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Elevace2.jpg>)

NSTEMI nemají ST – elevace na křivce EKG. Změny EKG při NSTEMI mohou být naopak ST – deprese či nespecificky změněné vlny T, nekrotické ložisko je menšího rozsahu, jedná se zejména o tzv. mikroinfarkty.

2.4. Chronické selhání ledvin

Chronická onemocnění ledvin jsou často provázena zvýšenou kardiovaskulární morbiditou a mortalitou a naopak, srdeční dysfunkce významně ovlivňuje funkci ledvin (Engliš, Šochman, 2009). Při chronickém selhání srdce dochází k mnohým změnám, jež vedou k poškození kardiovaskulárního systému. Mezi hemodynamické změny patří hypertenze, anemie, ztráta elasticity tepen a chronická zátěž vodou. Mezi nejvýznamnější metabolické vlivy řadíme kumulaci metabolických produktů, metabolickou acidózu a elektrolytové výkyvy.

2.5. Kardiotoxicita při chemoterapii

Kardiotoxicita patří mezi nejobávanější druhy orgánové toxicity, která je závislá na podaném chemoterapeutiku (př. Antracykliny, Cyklofosfamid) a obvykle také na množství podané dávky. V některých případech se však může projevit i při velmi malé dávce. Kardiotoxicita se nejčastěji projevuje jako chronická kardiomyopatie, v menší míře polékovou myokarditis – perikarditis a zcela výjimečně akutním poškozením myokardu.

3. Kardiální markery

Kardiální markery tvoří skupinu látek, které se při poškození myokardu, vyplavují do krve. Většinou se jedná o proteiny tvořené kardiomyocytem. Existují však i látky, které v séru či plasmě nemocných nacházíme v souvislosti s ischemickými změnami myokardu, přestože jím nejsou přímo produkovány. Změna jejich koncentrace, může být známkou změněného nebo měnícího se stavu myokardu. Některé kardiální markery ukazují na současný stav kardiomyocytu, některé mají prognostický význam.

V historii se laboratorní diagnostika onemocnění srdce zaměřovala především na detekci enzymů obsažených v cytosolu kardiomyocytů (AST, LD). Jejich nárůst je sice signifikantní, nicméně tyto enzymy nemají požadovanou citlivost či specifitu, v horším případě obojí. Proto se od jejich využití pro diagnostiku akutního koronárního syndromu upustilo. S postupně se zlepšujícími znalostmi etiologie a patogeneze kardiovaskulárních onemocnění, a zároveň se zlepšující se technickou úrovní, se začaly vyšetřovat strukturální proteiny kardiomyocytů, jejichž zvýšenou koncentraci v krvi prokážeme pouze při jejich poškození (cTn). Vzrostla tím kardiospecifita vyšetřovaných markerů, ačkoli už s poznáním přichází až po poškození, případně nekróze myocytů. V dnešní době se výzkum přesouvá na hledání nových markerů, které jsou schopné varovat lékaře včas, ještě před ireversibilním poškozením srdce.

Terapií akutního infarktu myokardu je nejčastěji chirurgický zákrok, katetrizace ucpané tepny. Z tohoto důvodu je snahou kardiologů mít v co nejkratším čase potvrzeno, že se opravdu jedná o infarkt myokardu a k tomu především slouží kardiální markery.

3.1. Markery používané v historii

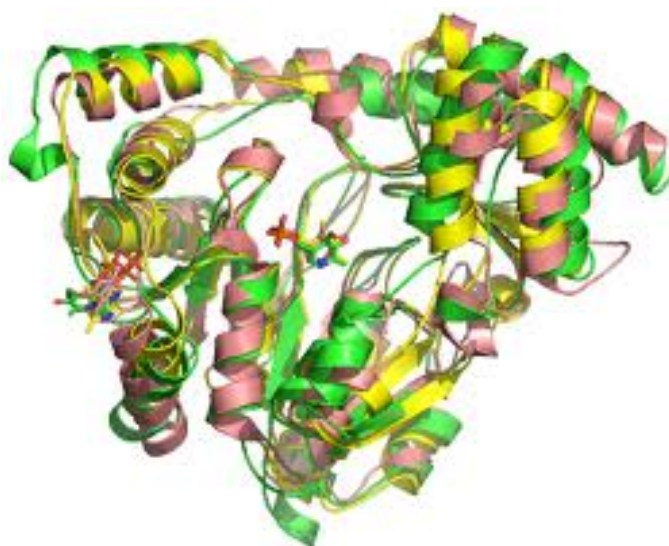
3.1.1. Aspartátaminotransferáza

Aspartátaminotransferáza (dále jen „AST“) je enzym katalyzující přenos aminoskupiny z aminokyseliny aspartátu na ketokyselinu 2-oxoglutarát a naopak. AST není kardiospecifický enzym, vyskytuje se také v hepatocytech, erytrocytech, v buňkách kosterního svalstva a jiných parenchymatózních orgánech (Racek, 2006).

Vzestup AST po IM byl pozorován v padesátých letech. V praxi se pro diagnostiku IM začala AST stanovovat koncem šedesátých let dvacátého století. Dnes se již pro diagnostiku IM nepoužívá.

Po ischemii myokardu AST obvykle stoupá za 4 – 8 hodin, vrcholu dosahuje za 16 – 48 hodin. Její koncentrace klesá za 4 – 5 dní (Racek, 2006).

Fyziologické hodnoty pro dospělé populaci jsou 0 – 0,67 μ kat/l. Stanovení ve velké míře ovlivňuje hemolýza séra či plasmy (encyklopedie lab. medicíny pro klinickou praxi).



Obr.4 Molekula AST

Dostupné z: <http://www.topsan.org/Proteins/JCSG/3ele>

3.1.2. Laktátdehydrogenáza

Laktátdehydrogenáza (dále jen „LD“) je enzym katalyzující vratnou přeměnu laktátu na pyruvát. LD je tetramer, který se skládá ze dvou podjednotek a to M (muscle) a H (heart). Tvoří 5 izoenzymů LD₁ (H₄), LD₂ (H₃M), LD₃ (H₂M₂), LD₄ (HM₃) a LD₅ (M₄). Izoenzymy LD se vyskytují prakticky ve všech tkáních organismu a to proto, že katalyzují poslední reakci anaerobního metabolismu glukózy. V myokardu se v nejvyšší míře vyskytuje izoenzym LD₁.

Vzestupu katalytické koncentrace LD, při podezření IM, bylo poprvé použito v šedesátých letech dvacátého století.

Po IM stoupá LD za 8 – 22 hodin, maxima dosahuje za 1 – 3 dny. K normálním hodnotám se vrací za 7 – 15 dní (Racek, 2006). Jako marker akutního infarktu myokardu se, kvůli pozdnímu vzestupu koncentrace a nespecifičnosti, téměř nedá použít.

Fyziologické hodnoty pro dospělou populaci jsou 0 – 7,68 μ kat/l (encyklopedie lab. medicíny pro klinickou praxi). Koncentrace nelze hodnotit při hemolýze séra či plasmy.

3.1.3. Kreatinkináza

Kreatinkináza (dále jen „CK“) katalyzuje reversibilní fosforylaci kreatinu. CK je dimer o molekulové hmotnosti cca 40 kDa a skládá se ze dvou podjednotek M (muscle) a B (brain). Tvoří tři izoenzymy CK – MM, CK – MB a CK – BB. Izoenzym BB se vyskytuje v mozku, izoenzymy MM a MB se vyskytují v kosterním i srdečním svalu, liší se však svými poměry na celkové

koncentraci CK. V kosterním svalstvu je přítomno téměř 100% CK – MM, jen malý podíl tvoří izoenzym MB. V srdečním svalstvu je jejich poměr přibližně 60% pro CK – MM a 40% pro CK - MB (Racek, 2006). Svým vysokým podílem v kosterním svalstvu zapříčiňuje nízkou specifickou pro kardiomyocyt.

Enzym CK se při podezření na IM stanovuje od šedesátých let 20. století.

Vzestup koncentrace CK pozorujeme za 3 – 8 hodin po IM, maximální koncentrace dosahuje po 24 hodinách. K normálním hodnotám se vrací za 3 – 4 dny. Fyziologické hodnoty katalytické koncentrace CK jsou závislé na rase, pohlaví, věku, svalové hmotě a fyzické aktivitě daného jedince.

Při angině pectoris je obvykle aktivita CK v referenčním rozmezí a jen o málo vyšší je při srdečních vadách a tachykardii (Schneiderka, 2006).

| do 30 let | | 31 – 40 let | | 41 – 50 let | | 51 – 60 let | | nad 60 let | |
|-----------|------|-------------|------|-------------|------|-------------|------|------------|------|
| M | Ž | M | Ž | M | Ž | M | Ž | M | Ž |
| 3,80 | 2,50 | 2,85 | 2,20 | 3,60 | 3,10 | 4,30 | 2,90 | 2,60 | 1,90 |

Tabulka 1. Fyziologické hodnoty CK
(Převzato z prezentace Markery srdečního poškození; Jaroslava Vávrová, Miloš Tichý)

3.1.4. Izoenzym CK – MB

V osmdesátých letech dvacátého století se začíná stanovovat katalytická koncentrace CM – MB. Je specifitějším markerem než celková aktivita CK. Specifická pro myokard vzrůstá při vyjádření poměru aktivity CK – MB na celkové aktivitě CK. Čím vyšší je podíl CK – MB, tím je vyšší pravděpodobnost, že je srdečního původu, udává se hodnota nad 6%. Koncentrace je silně ovlivněna hemolýzou.

Při akutní ischemické nekróze kardiomyocytů resp. při nekróze myokardu jiné etiologie a patogenezy dochází k vzestupu CK – MB v krvi za 3

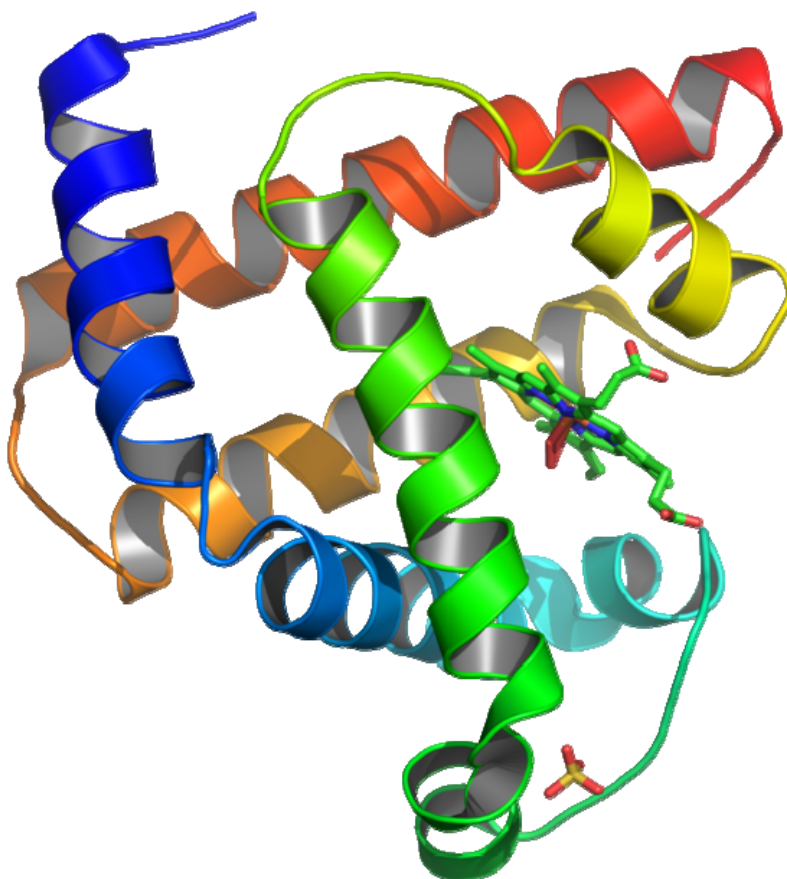
až 10 hodin po začátku onemocnění, koncentrace dosahuje maxima přibližně za 24 hodin a vrací se k normě do 48 až 72 hodin (Friedecký a kol., 2007).

3.2. Markery používané v současnosti

3.2.1. Myoglobin

Myoglobin je cytosolový hemoprotein o velikosti 17 kDa. Hlavní funkcí myoglobinu je transport kyslíku a jen částečně zásoba kyslíku. Vyskytuje se v příčně pruhovaném svalstvu jak kosterním, tak srdečním.

Díky malé molekule se myoglobin dostává velmi rychle do krve a je proto velmi časným markerem IM. Pro samotnou diagnostiku IM má myoglobin vysokou citlivost, téměř 100%, avšak je velmi málo specifický. Pro interpretaci zvýšených hladin je nutné přihlédnout i k jiným důvodům, např. zhmoždění nebo jiné onemocnění kosterních svalů. Největším přínosem stanovení myoglobinu je jeho negativní prediktivní hodnota.



Obr. 5 molekula myoglobinu
(dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Myoglobin_01.png)

Pokud se myoglobin v krvi nezvýší ani po 6 až 8 hodinách od začátku bolesti na hrudi, lze s téměř 100% pravděpodobností IM vyloučit.

Koncentrace myoglobinu v krvi stoupá již po 1 až 2 hodinách, maxima dosahuje po 6 až 10 hodinách od počátku bolesti na hrudi. K normálním hodnotám se vrací po 12 až 24 hodinách.

Fyziologické koncentrace pro muže jsou do 72 $\mu\text{g/l}$ a pro ženy do 51 $\mu\text{g/l}$ (encyklopedie lab. medicíny pro klinickou praxi).

3.2.2. CK – MB mass

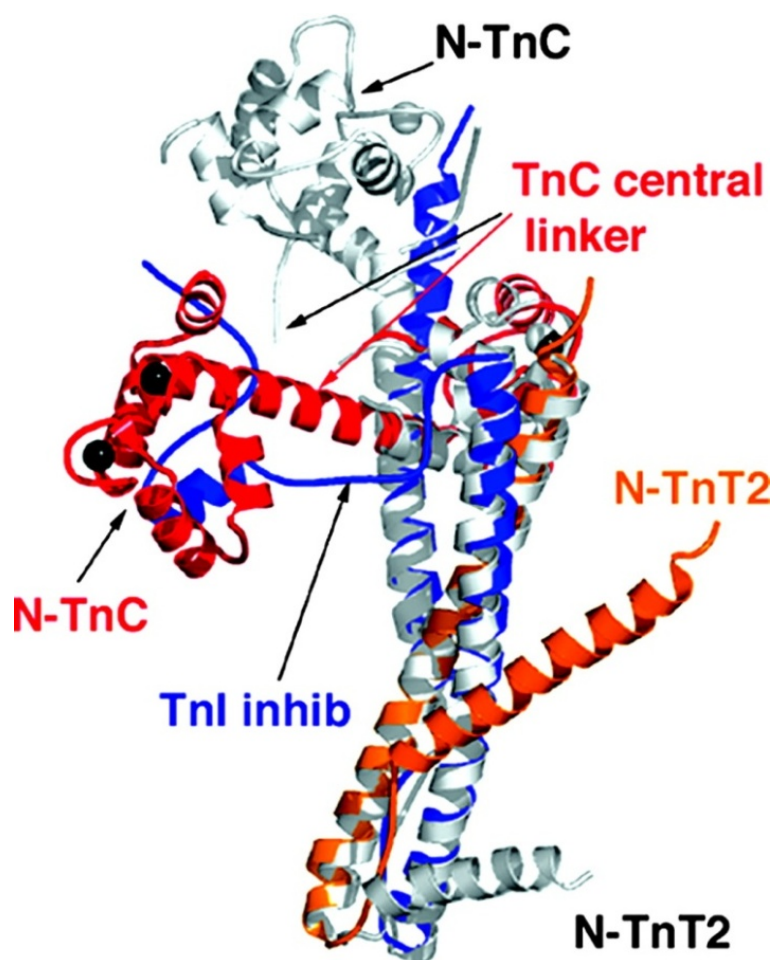
V devadesátých letech dvacátého století se začalo využívat stanovení tzv. CK – MB mass. Jde o imunochemické stanovení hmotnostní koncentrace izoenzymu CK – MB, kvantifikuje se tedy samotný protein a ne jeho enzymová aktivita. Na rozdíl od stanovení aktivity CK – MB (v $\mu\text{kat/l}$) se v tomto případě prokáží i částečně degradované molekuly, které enzymovou aktivitu ztratily, reagují však dosud se specifickou protilátkou (Racek, 2006). Tímto vyjádřením koncentrace se zvyšuje citlivost a také i záchyt. Proto by mělo toto stanovení nahradit původní stanovení katalytické aktivity CK – MB.

Fyziologické hodnoty jsou 5 – 8 $\mu\text{g/l}$ (encyklopedie lab. medicíny pro klinickou praxi).

3.2.3. Troponiny

Troponiny (dále jen „Tn“) jsou strukturní bílkoviny příčně pruhovaných svalových buněk, kde se podílejí na regulaci svalové kontrakce. Troponiny jsou vázány v komplexu tří molekul – troponin C (dále jen „TnC“), troponin I (dále jen „TnI“) a troponin T (dále jen „TnT“). Troponinový komplex je vázán na molekulu tropomyosinu. TnT je spojený s tropomyosinem a TnC. Troponin I blokuje na aktinu vazebné místo pro myosin a tím brání jejich interakci. Při podnětu ke kontrakci se vyplavují vápenaté ionty, které se váží na TnC. TnC změří konformaci, TnI a tropomyosin s TnT se přesunou, tím dojde k uvolnění vazebného místa aktinu pro myosin a následně ke kontrakci.

Ve svalových buňkách se nachází vázané na tenká myofilamenta cca 95% a zbylých cca 5% je ve formě volné v cytosolu. Troponiny jsou exprimovány v několika specifických izoformách.



Obr. 6 Troponinový komplex
(dostupné z:<http://www.pnas.org/content/102/14/5038/F3.expansion.html>)

Jsou to izoformy pomalých a rychlých vláken kosterního svalu a troponiny srdeční svaloviny. Srdeční troponin T (dále jen „cTnT“) a srdeční troponin I (dále jen „cTnI“) jsou absolutně kardiospecifické, naproti tomu cTnI je od formy kosterní svaloviny nerozeznatelný. Proto se pro diagnostiku kardiálních onemocnění využívá stanovení srdečních troponinů T a I. Jako diagnostické markery jsou TnI a TnT rovnocenné.

Za normálních podmínek jsou hladiny troponinů v krvi takřka nedetekovatelné. Tn se při ireversibilním poškození kardiomyocytu, zejména při IM nebo při poškození myokardu, rychle vyplavují do krve. Nejprve se do oběhu dostávají volné cytosolové formy, a při prohlubujícím se poškození kardiomyocytů se vyplavují i troponinové komplexy.

Hraniční koncentrace troponinů v krvi byly redefinicí IM r. 2000 stanoveny jako 99 percentil koncentrací referenční populace stanovitelného s celkovou nepřesností $CV_{anal.} \leq 10\%$.

Možnosti využití stanovení troponinů jsou široké. Nejčastěji se však používají při diagnostice akutního koronárního syndromu, sledování pacientů s anginou pectoris a u dalších kardiovaskulárních onemocnění. Vhodné je sledovat hladiny srdečních troponinů u pacientů se selháním ledvin, onkologických pacientů při podávání chemoterapie a u pacientů po kardiochirurgickém zásahu.

| parametr | cTnT | cTnI |
|------------------------------|--------------|--------------|
| relativní mol. hmotnost | 37 000 Da | 23 867 Da |
| cytosolový pool volného Tn | 6 – 8% | 2,8 – 4,1% |
| biologický poločas | 120 min. | < 120min. |
| vzestup od počátku STEMI | 3 – 4 hod. | 3 – 5 hod. |
| kulminace koncentrace v krvi | 12 – 75 hod. | 12 – 30 hod. |

Tab. 2 Srovnání troponinů T a I (Engliš, Šochman; 2009)

| | | | |
|--|--|--|--|
| P ř e d n o s t i | absolutní kardiospecifita | N e d o s t a t k y | vzestup koncentrace začíná relativně pozdě po začátku nekrózy, obvykle >2 hodiny |
| | vysoká diagnostická senzitivita | | jen s výhradami lze použít pro hodnocení reperfuze, diagnostice reinfarktu |
| | vzestup koncentrace v krvi nad rozhodovací limit IAIM dle doporučení mezinárodních odborných společností | | nesrovnatelnost výsledků stanovovaných různými metodami |
| | vzestup koncentrace odpovídající rozsahu poškozeného myokardu | | kvantitativní změny TnI, zjištěné různými metodami mají odlišnou diagnostickou i prediktivní hodnotu |
| | déledobý vzestup koncentrace umožňující průkaz nekrózy myokardu i několik dní po jejím začátku | | |
| | krátký TAT (čas odezvy), možnost stanovení metodami POCT (point-of-care-testing) | | |
| | stratifikace rizika vzniku kardiovaskulárních komplikací vývoj ultrasenzitivních metod | | |

Tab.3 Souhrn předností a nedostatků ve stanovení cTn (Engliš, Šochman; 2009)

Momentálně se ke stanovení cTn používají metody 4. generace, ale na trhu již jsou i metody 5. generace tzv. „high sensitivity“. V současné době je třeba se soustředit na sledování nových informací, které může přinést zvýšení citlivosti metod na stanovení troponinů a zaměřit se především na klinickou interpretaci mírně zvýšených výsledků a na definování rozhodovacích limitů pro jednotlivá kardiovaskulární onemocnění (Vašatová a spol., 2010).

3.2.4. Natriuretické peptidy

Jako natriuretické peptidy (dále jen „NP“) je označována skupina látek s podobnou strukturou a funkcí. Základem molekuly NP je typický 17 členný kruh aminokyselin spojený disulfidickými můstky, a až na CNP mají dva postranní řetězce. Postranní řetězce určují biologické vlastnosti dané molekuly NP. Rozlišujeme ANP, BNP, CNP, DNP, PNP, VNP a mnoho dalších.

ANP, BNP a CNP jsou natriuretické peptidy humánního původu. DNP byl zjištěn v jedu hada mamby zelené, PNP je syntetizován v rostlinách a VNP je syntetizován rybami.

Hlavním faktorem vyvolávajícím syntézu NP je zvýšené srdeční napětí myocytů. K této situaci může docházet jak při zvýšeném plnění srdečních oddílů, tak při chronickém srdečním selhání (Jabor, 2010). Dalším z faktorů je působení katecholaminů, angiotenzinu II a endotelinu – 1. NP jsou přirozeným inhibítorem těchto peptidových hormonů. Ke zvýšené syntéze ANP a BNP dochází při ischemii myokardu. NP nejsou sice kardiospecifickým markerem poškození srdce, ale jsou markerem kardiovaskulárního rizika.

- **Atriální natriuretický peptid – ANP**

Molekula ANP se skládá z 28 aminokyselin. Syntéza ANP probíhá v myocytech srdečních síní, méně pak v myocytech komor. Dále syntéza probíhá v gastrointestinálním traktu, ledvinách, nadledvinách, mozku a v dalších tkáních. Nejprve je syntetizován peptid pre – pro ANP, z kterého vzniká prohormon pro ANP, a z něj se odštěpením N – terminálního fragmentu stává aktivní ANP.

Mezi hlavní účinky ANP patří relaxace hladké cévní svaloviny, diuréza, natriuréza, inhibice sekrece aldosteronu v nadledvinách a reninu v ledvinách.

Pro diagnostiku stupně koronárních onemocnění má stanovení ANP přibližně stejnou výpovědní hodnotu jako stanovení ejekční frakce levé komory. Kvůli velice krátkému poločasu (0,5 – 4 minuty) a náročnosti na preanalytické požadavky se však nepoužívá.

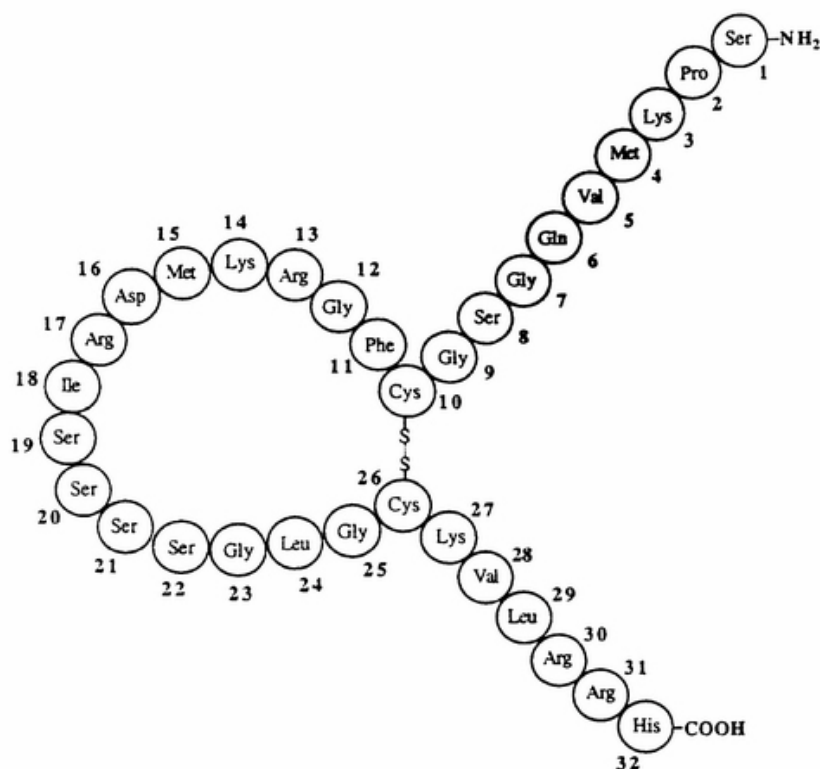
- **Mozkový natriuretický peptid – BNP**

Mozkový natriuretický peptid, či jinak nazývaný NP typu B vzniká nejprve ve formě pre – pro BNP. Z pre – pro BNP se odštěpuje signální peptid a vzniká neaktivní pro BNP, z něj teprve odštěpením N – terminální části BNP (dále jen „NT – pro BNP“) vzniká aktivní forma hormonu BNP.

BNP je syntetizován buňkami srdečních síní a komor, mozku a nadledvin. Nejsilnějším stimulem syntézy BNP je tlakové či objemové přetížení myokardu, méně pak ischemie myokardu (Pudil; Tichý, 2010).

Hlavními účinky stejně jako u ANP jsou vazodilatace, natriuréza a diuréza. BNP má navíc ještě renoprotektivní účinek (Jabor, 2010). V klinické praxi se stanovují hladiny aktivního hormonu BNP, ale také NT – pro BNP. Oba analyty mají klinicky srovnatelnou výpovědní hodnotu, liší se ale svými vlastnostmi. Příkladem je stabilita molekuly. NT – pro BNP je výrazně stabilnější a má delší poločas než BNP, který vyžaduje dodržení náročné preanalytiky.

Klinický význam stanovení BNP a NT – pro BNP spočívá v stratifikaci nemocných s dušností. Díky vysoké negativní prediktivní hodnotě 99% (Jabor, 2010; Pudil, Tichý, 2010), lze u těchto nemocných odlišit dušnost způsobenou kardiovaskulárním selháním, či z jiných příčin. Cenným přínosem je tedy jejich prognostický význam.



Obr. 7 Molekula BNP
(dostupné z: http://www.genscript.com/product_001/rec_peptide/code/RP11119/category/peptide/Brain_Natriuretic_Peptide_BNP_1-32_human.html)

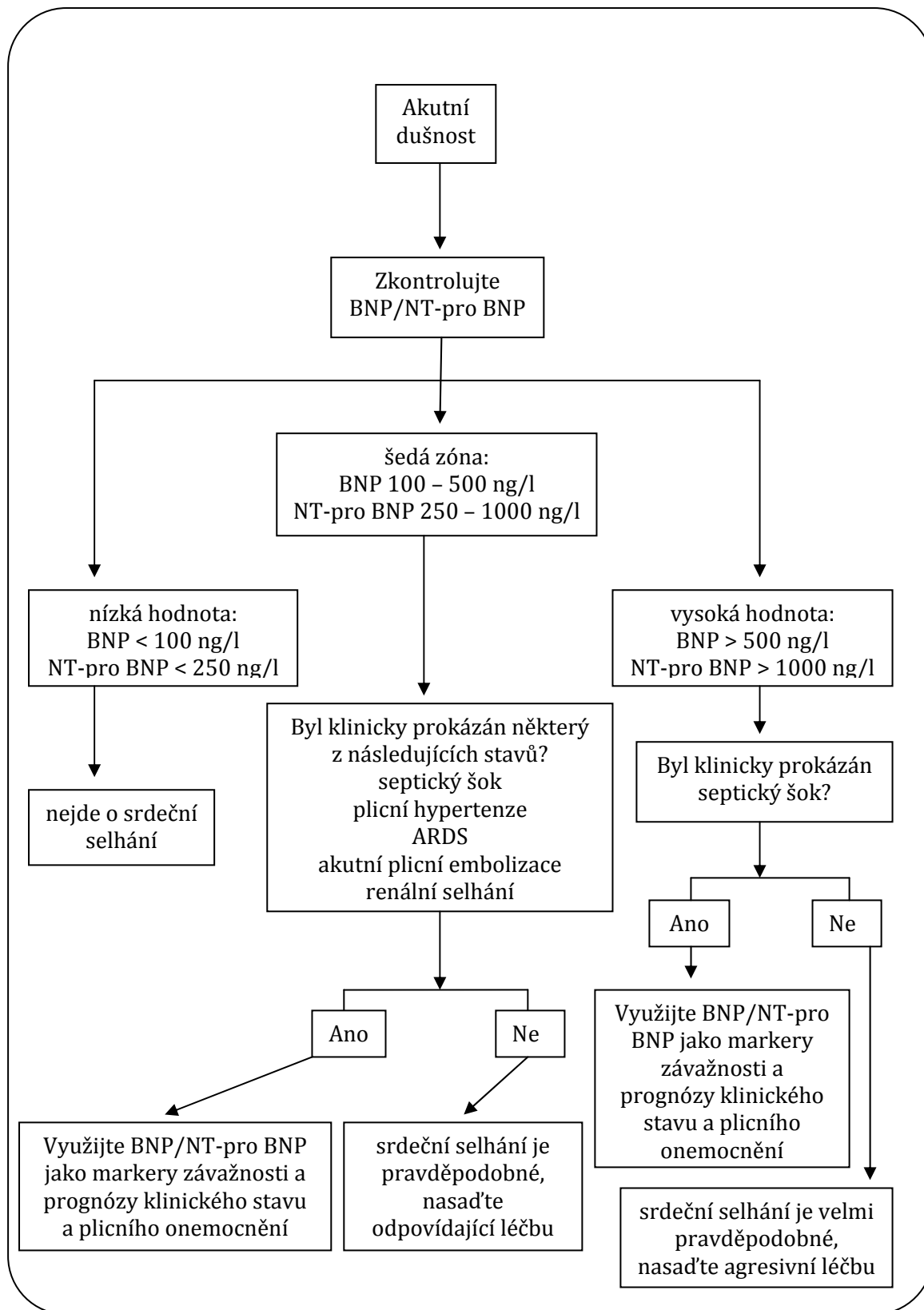


Schéma č.1 Využití BNP/NT-pro BNP při stratifikaci nemocných s dušností (Jabor; 2010)

- **Natriuretický peptid typu C – CNP**

CNP existují tři typy. Podle počtu aminokyselin v řetězci se dělí na CNP – 53, CNP – 29 a CNP – 22. CNP se syntetizuje v endotelu, centrálním nervovém systému, kardiomyocytech a v ledvinách.

Hlavními účinky jsou vazodilatace, inhibice proliferace fibroblastů v myokardu a aktivace růstu kosti.

Vzhledem k nízkým koncentracím se nevyšetřuje.

3.3. Nové potenciální markery

Některé potenciálně nové markery jsou známy již mnoho let a jejich možné využití je známé. Největšími překážkami pro jejich uvedení do klinické praxe jsou metodická či ekonomická náročnost a dále nezavedení a nepřijetí v mezinárodně uznávaných doporučení.

3.3.1. Ischemií modifikovaný albumin

Ischemií modifikovaný albumin (dále jen „IMA“) není markerem ireversibilního poškození myokardu. Hladina IMA stoupá v závislosti na ischemii, a to i pokud nedojde k nekróze myokardu. IMA byl objeven začátkem devadesátých let dvacátého století.

Teorií mechanismu vzniku IMA je hned několik. Za normálních okolností je N – terminální část albuminu schopná vázat molekuly kovů (např. kobalt, nikl, měď). IMA má změněnou strukturu N – terminální části své molekuly.

Jednou z těchto teorií je, že aktivní formy kyslíku, které při ischemii vznikají, modifikují strukturu albuminu. Změněná struktura zapříčiňuje snížení vazebné schopnosti albuminu pro molekuly těchto kovů. Aktivní formy kyslíku navíc způsobují zvýšené uvolňování mědi z ceruloplasminu. Tyto molekuly mědi navíc ještě obsazují volné vazebné místo albuminu (Dušek a spol., 2010).

K signifikantní elevaci IMA při ischemii myokardu dochází již po několika minutách, maxima dosahuje do 1 – 3 hodin. K normálním hladinám se vrací za 6 – 12 hodin po vzniku ischemie.

Velkou výhodou stanovení IMA je jeho cca 90% pozitivní i negativní prediktivní hodnota pro diagnostiku akutního koronárního syndromu (Bhagavan a spol., 2003). Další výhodou je brzký nárůst jeho koncentrace při vzniku ischemie.

Jednou z nevýhod je, že IMA nebyl k dnešnímu dni zavzat do žádných doporučení týkajících se přístupu k pacientům se suspekci na akutní koronární syndrom (Dušek a spol., 2010). Další překážkou v uvedení IMA do praxe je neexistence standardizované soupravy pro jeho stanovení.

3.3.2. Glykogenfosforiláza BB

Glykogenfosforiláza je enzym nacházející se v endoplazmatickém retikulu různých buněk. Skládá se ze dvou podjednotek, vyskytuje se ve formě tří orgánově specifických izoenzymů: LL (liver) izoenzym přítomný v játrech, MM (muscle) izoenzym kosterní svaloviny, BB (brain) izoenzym přítomný v mozku, ale také v myokardu. Glykogenfosforiláza katalyzuje první reakci glykogenolýzy, tj. přeměnu glykogenu na glukózo – 1 – fosfát.

Při ischemii dochází k anaerobní glykolýze, při níž glykogenfosforiláza BB štěpí glykogen. Zároveň se kvůli ischemií zvýšené propustnosti membrány vyplavuje z cytoplasmy a přechází tak do cirkulace.

K vzestupu glykogenfosforilázy dochází za 2 – 4 hodiny, maxima dosahuje za 6 – 20 hodin po vzniku ischemie. K normálním hodnotám se vrací do dvou dnů.

Fyziologické hodnoty jsou méně než 7,0 µg/l (Dušek a spol., 2010).

3.3.3. Cholin

Fosfolipáza D katalyzuje hydrolytickou přeměnu lecitinu v cholin. Fosfolipáza D je přítomna v tkáních. Aktivace fosfolipázy D je jedním z hlavních faktorů destabilizace aterosklerotických plátů. Tento enzym je zřejmě aktivován stimulací makrofágů, oxidovanými LDL, změnami aktivity metaloproteináz, aktivací destiček kolagenem či zvýšenou vazbou fibrinogenu na receptory IIb/IIIa, tedy s kaskádou dějů vedoucích k destabilizaci aterosklerotického plátu. Aktivovaná fosfolipáza uvolňuje cholin z membránových fosfolipidů a ten je následně zabudován do krvinek. Aktivita fosfolipázy D je přímo úměrná koncentraci cholinu v plné krvi.

Cholin není markerem nekrózy myokardu, je však schopen označit nemocné s nestabilní anginou pectoris mající zvýšené riziko infarktu myokardu (Danne a spol., 2003).

Velkou nevýhodou pro praktické využití cholinu je technická a ekonomická náročnost stanovení (HPLC v kombinaci s hmotnostní spektrometrií).

3.3.4. Vazebný protein pro mastné kyseliny

Protein vázající mastné kyseliny (dále jen „FABP“) je nízkomolekulární protein vyskytující se v cytoplasmě. FABP se vyskytuje v různých formách, dnes je známo 9 typů. Srdeční izoforma je složená ze 132 aminokyselin.

Funkcí FABP je především transportovat mastné kyseliny v buňkách k místu jejich oxidace. Díky své malé molekule rychle uniká z poškozené buňky.

Elevace FABP při infarktu myokardu je velmi podobná jako u myoglobinu, jen s tím rozdílem, že srdeční forma FABP se vyznačuje vyšší specifitou (Schneiderka, 2006).

4. Závěr

Kardiálních markerů je velké množství, výzkum jde neustále kupředu a jsou objovovány stále nové a nové. Některé markery mají široké použití, některé i při dobré vůli nelze v praxi příliš využít.

V minulých letech byl v diagnostice IM pro kombinaci kreatinkinázy a jejího izoenzymu MB zaveden pojem „Zlatý standard“.

Ačkoli měření CK a CK – MB jistě přineslo mnoho úspěchů, dnes je již tento „Zlatý standard“ překonán dvojicí srdeční troponiny (cTnI, cTnT) a natriuretické peptidy (BNP, NT – pro BNP).

Do budoucna si myslím, že se, po vyřešení zatím panujících nejasností v interpretaci a standardizaci, v diagnostice IM jeví nejperspektivnějším vyšetření High sensitivity Troponinů.

Cílem této rešeršní práce bylo seznámit se a zároveň se naučit pracovat s odbornou literaturou a dále shrnout hlubší poznatky o kardiálních markerech. Domnívám se, že jsem si prohloubila a utřídila poznatky o dané problematice, můj původní úmysl se podařilo z velké části splnit.

Souhrn

Malé či větší poškození srdce má vliv na zdravotní stav a může vést až ke smrti pacienta. Ke zpřesnění nebo určení diagnózy napomáhá EKG a mimo jiné i laboratorní vyšetření kardiálních markerů.

Laboratorní stanovení srdečních markerů a sledování jejich dynamiky vede ke zlepšení péče a terapie poškozených. Některé markery se dají využít jako ukazatele současného stavu nemocného, jiné, jako např. natriuretické peptidy, napomáhají především k potvrzení či vyvrácení příčiny daných komplikací.

Tato bakalářská práce obsahuje dvě hlavní části. První část pojednává o klinických indikacích pro stanovení kardiálních markerů, jedná se především o onemocnění srdce spojené s aterosklerosou. Druhá část se týká samotných kardiálních markerů, které jsou seřazeny podle aktuálnosti použití na historické, současné a potenciální markery budoucnosti.

Tato práce z mého pohledu splňuje svůj hlavní cíl a shrnuje informace na dané téma, jímž jsou kardiální markery.

Summary

Both minor or major cardiac injury affects health and it even might lead to death. Besides ECG, laboratory examination of cardiac markers is used to define diagnosis.

Laboratory testing of cardiac markers and their monitoring leads to a better care and treatment of patients. Some markers can be used as indicators of a current status of ischemia, others, such as natriuretic peptides, mostly help to confirm or disapprove cause of the complications.

This bachelor thesis consists of two parts. First part focuses on clinical indications used to define the cardiac markers. Heart diseases associated with atherosclerosis form the focal point of the first part. The second part deals with the cardiac markers themselves. They are sorted in a historical order, starting with the older markers up to the current ones, with an lookout at the potential cardiac markers of the future.

The work in front of you, in my opinion, fulfills its aim and summarizes the information on the subject of cardiac markers.

Literatura a prameny

BHAGAVAN, V. N.; LAI, E. M.; RIOS, P. A. a spol., *Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial infarction*, *Clinical Chemistry*, 49 (4), 2003 s. 581-585

dostupné z: <http://www.clinchem.org/cgi/content/abstract/49/4/581>

DANNE, O.; Möckel, M.; Lueders, C. a spol., *Prognostic implications of elevated whole blood choline levels in acute coronary syndromes*, *Am. J. Cardiol.*, 91 (9), 2003

dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12714147>

DUŠEK, J.; CHEK, J. L.; ŠTÁSEK, J. a spol., *Markery myokardiální ischemie: slepá ulička nebo budoucnost laboratorní diagnostiky v kardiologii?* *Interv. Akut. Kardiol.*, 9 (4), 2010, s. 190-194

ENGLIŠ, M.: ústní sdělení, 2011

ENGLIŠ, M.; ŠOCHMAN, J. *Srdeční troponiny v klinické praxi*, 2. vyd. Praha, Tac-Tac agency s.r.o. 2009; s. 31, 58, 16-17, 21-22

FRIEDECKÝ, B.; ENGLIŠ, M.; FRANEKOVÁ, J. a spol., *Doporučení České společnosti klinické biochemie ke stanovení biochemických markerů poškození myokardu*, 2007, s. 51

dostupné z: http://www.cskb.cz/res/file/doporuzeni/kardialni_dopor.pdf

FRIEDECKÝ, B.; TICHÝ, M.; KRATOCHVÍLA, J., *Srdeční troponiny – historie, současná praxe, novinky a trendy*, Klin. Biochem. Metab., 18 (39), 2010, č. 4, s. 184-189

JABOR, A. *Natriuretické peptidy*, 1. vyd. Praha, Roche s.r.o. 2010
s. 29, 40

JABOR, A. a spol. *Encyklopedie pro laboratorní praxi*, 9. verze on-line, 2009, kapitoly: AST, LD, Myoglobin, CK MB mass v plasmě, Fatty acid binding protein, Glykogenfosforyláza BB
dostupné z: www.enclabmed.cz

KEPÁK, T., *Pozdní následky po léčbě nádorových onemocnění dětského věku*, Klinická onkologie, 17 (5), 2004, s. 162-166

MAČÁK, J.; MAČÁKOVÁ, J. *Patologie*, 1. vyd. Praha, Grada Publishing 2004

MARIEB, E. N.; MALLAT, J. *Anatomie lidského těla*, 3. vyd. Brno CP Books 2005

PUDIL, R.; TICHÝ, M., *Natriuretické peptidy a srdeční selhání – současný pohled*, Klin. Biochem. Metab., 18 (39), 2010, č. 4, s. 190-195

PUDIL, R.; TICHÝ, M.; VOJÁČEK, J., *Kardiomarkery na prahu třetího tisíciletí*, Interv. Akut. Kardiol., 2010, č. 6, s. 22-23

RACEK, J. a kol. *Klinická biochemie*, 2. vyd. Praha, Galén 2006
s. 85-86, 186-189

SCHNEIDERKA, P. *Laboratorní markery srdečních chorob*, Klin. Biochem. Metab., 14 (35), 2006, č. 3, s. 161 – 167

ŠTEJFA, M. *Kardiologie*, 3. vyd. Praha, Grada Publishing 2007

VAŠATOVÁ, M.; HOLEČKOVÁ, M.; BARTOŠKOVÁ, I. *Kardiální troponin T ultrasenzitivní metodou – porovnání metod*, Klin. Biochem. Metab., 18 (39), 2010, č. 4; s. 196-199

VÁVROVÁ, J.; TICHÝ, M., *Markery srdečního poškození*, materiály z přednášky, 2011

WU, Alan H. B. *Cardiac markers*, 2. vyd. Totowa, Humana Press 2003

<http://www.ekg.kvalitne.cz/popis5.htm>, 23. 4. 2011

Seznam použitých zkratek

| | |
|--------------|---|
| AP | Angina pectoris |
| AST | Aspartátaminotransferáza |
| CK | Kreatinkináza |
| CK – MB | Kreatinkináza MB, izoenzym |
| cTn | Srdeční troponin |
| cTnC | Srdeční troponin C |
| cTnI | Srdeční troponin I |
| cTnT | Srdeční troponin T |
| Da/kDa | Dalton/kiloDalton |
| EKG | Elektrokardiograf |
| FABP | Protein vázající mastné kyseliny (fatty acid binding protein) |
| HPLC | Vysokoúčinná kapalinová chromatografie |
| ICHS | Ischemická choroba srdeční |
| IM | Infarkt myokardu |
| IMA | Ischemií modifikovaný albumin |
| LD | Laktátdehydrogenáza |
| NP | Natriuretické peptidy |
| NSTEMI | Infarkt myokardu bez ST elevace |
| NT – pro BNP | N terminální fragment pro BNP |
| POCT | testování u lůžka nemocného (point of care tasting) |
| STEMI | Infarkt myokardu s elevacemi ST |
| TAT | Doba odezvy (turn around time) |
| Tn | Troponin |
| TnC | Troponin C |
| TnI | Troponin I |
| TnT | Troponin T |

Seznam obrázků a tabulek

| | | |
|--------------|---|---------|
| Obrázek č. 1 | Ložisko infarktu myokardu | str. 8 |
| Obrázek č. 2 | Normální obraz EKG | str. 9 |
| Obrázek č. 3 | Elevace ST při STEMI | str. 9 |
| Obrázek č. 4 | Molekula AST | str. 12 |
| Obrázek č. 5 | Molekula myoglobinu | str. 15 |
| Obrázek č. 6 | Troponinový komplex | str. 17 |
| Obrázek č. 7 | Molekula BNP | str. 22 |
| Tabulka č. 1 | Fyziologické hodnoty CK | str. 14 |
| Tabulka č. 2 | Srovnání troponinů T a I | str. 18 |
| Tabulka č. 3 | Souhrn předností a nedostatků ve stanovení cTn | str. 19 |
| Schéma č.1 | Využití BNP/NT-pro BNP pro stratifikaci nemocných s dušností | str. 23 |